

УДК 576.895.121

**МИКРОМОРФОЛОГИЯ И АДАПТИВНОЕ ЗНАЧЕНИЕ  
ЗАРОДЫШЕВЫХ ОБОЛОЧЕК ЯИЦ ЦЕСТОД  
ПОДОТРЯДА HYMENOLEPIDATA (CESTODA, CYCLOPHYLLIDEA)**

**В. А. Кашин**

Изучена ультраструктура зародышевых оболочек яиц пяти видов гименолепидат. Полученные данные позволяют рассматривать оболочки как комплекс ценогенетических структур, адаптированных к конкретным условиям окружающей среды.

Яйцевые или зародышевые оболочки беспозвоночных животных служат прежде всего для защиты эмбрионов от воздействия окружающей среды. Они имеют адаптивное значение, причем «большее или меньшее развитие оболочек связано с условиями, в которых протекает развитие зародыша» (Иванова-Казас, 1975).

Имеются достаточно подробные сведения об ультраструктурной организации зародышевых оболочек яиц тениид и некоторых других таксонов циклофиллидей, чье развитие проходит в наземных позвоночных и беспозвоночных животных (Lethbridge, 1980; Fairweather, Threadgold, 1981; Schramlova, Blazek, 1983). В то же время практически отсутствуют данные об организации оболочек у многочисленных представителей подотряда Hymenolepidata — видов, широко распространенных и использующих в качестве промежуточных хозяев различные таксономические и экологические группы водных беспозвоночных. Недостаток подобных знаний особо ощутим в связи с тем, что именно зародышевым оболочкам гименолепидат приписывается ведущая роль в определении специфичности по отношению к промежуточным хозяевам (Томиловская, 1985; Јагеска, 1961).

Мы изучили микроморфологию зародышевых оболочек яиц пяти видов гименолепидат, принадлежащих к двум семействам: Hymenolepididae — *Aploparaksis raushi* Webster, 1955; *Microsomacanthus microskrjabini* Spassky et Jurpalova, 1964; *Wardium pacificum* Spassky et Jurpalova, 1968; Dilepididae — *Dichoanotaenia bacilligera* (Krabbe, 1869) Fuhrmann, 1908; *Dichoanotaenia tundra* Spassky et Kononov, 1967. Это широко распространенные виды, паразитирующие у водных и околотовных птиц Северо-Западной Чукотки, а на личиночной фазе — в различных водных беспозвоночных: *A. raushi* — в олигохетах; *M. microskrjabini* — в высших ракообразных (гаммарусах); *W. pacificum* — в низших ракообразных; *D. tundra* — в личинках насекомых (типулиды). Для *D. bacilligera* промежуточный хозяин не установлен.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКИ

Материал собран на Чаунском биологическом стационаре ИБПС ДВНЦ АН СССР в 1981—1984 гг. Исследование проводили на зрелых яйцах, находящихся в маточных члениках цестод, у *M. microskrjabini* — на отдельных пакетах яиц. О зрелости яиц судили по подвижности онкосфер при наблюдении под световым микроскопом выделенных в воду яиц. Фотографирование живых нефиксированных яиц производилось с использованием фазово-контрастного микроскопа.

Для электронной микроскопии материал фиксировали в 6.5 %-ном растворе глутаральдегида на фосфатном буфере pH=7.4. После промывки в растворе сахарозы членики рассекали на мелкие кусочки и дополнительно фиксировали в 2 %-ном растворе OsO<sub>4</sub> на ацетат-вероналовом буфере по Колфилду. Пакеты яиц *M. microskrjabini* фиксировали целиком. Материал обезжизнявали и заливали в эпон или смесь эпон-аралдит. Ультратонкие срезы, полученные на ультратоме LKB, контрастировали свинцом по Рейнольдсу. Часть срезов дополнительно окрашивалась уранилацетатом. Материал исследовали в электронном микроскопе Tesla BS-500 при ускоряющем напряжении 90 кв. Изучено по 30—50 экз. яиц каждого вида от разных стробил.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При описании зародышевых оболочек мы пользуемся терминологией Рыбickой (Rybicka, 1966, 1972). Поскольку «мембрана онкосферы» имеет общую для изученных нами видов структуру и не отличается от описанной ранее для других циклофиллидей (Кашин, Плужников, 1983; Fairweather, Threadgold, 1981; Gabrion, 1981), мы не приводим здесь ее описание.

*D. bacilligera*. Самая наружная зародышевая оболочка — капсула, представляет собой электронноплотную, сильно складчатую пластинку толщиной около 25 нм (рис. 1, 1; см. вкл.), расправляющуюся при попадании яиц в воду (рис. 1, 2).

Под капсулой расположен слой цитоплазмы, содержащий фрагменты клеточных органелл и включения в виде светлых везикул различной величины, плотность содержимого которых варьирует. Этот слой описывается обычно как наружная оболочка.

Под наружной оболочкой расположена внутренняя. Их разделяет так называемая «подскорлуповая мембрана» — электронноплотная пластинка толщиной около 30 нм (рис. 1, 1, 2). Внутренняя оболочка значительно толще наружной, в ее составе формируется два дополнительных слоя — эмбриофор и «мембрана онкосферы». По причинам, которые будут рассмотрены в обсуждении, мы принимаем за эмбриофор у этого вида не только тонкий слой материала высокой электронной и оптической плотности снаружи от онкосферы, который описывается как собственно эмбриофор (Томиловская, 1977), а все многослойное образование, разделяющее цитоплазму внутренней оболочки на два слоя.

Матрикс цитоплазмы наружной части внутренней оболочки, расположенной под «подскорлуповой мембраной», очень светлый, разреженный, содержит немногочисленные включения в виде пузырьков различной величины, часто с зернистым содержимым (рис. 1, 1). Эмбриофор состоит из нескольких слоев, отличающихся по электронной плотности (рис. 1, 3). Поверхность его образует многочисленные булавовидные выросты и покрыта двуслойной мембраной (рис. 1, 4). Наружная часть эмбриофора образована слоем зернистого материала высокой электронной плотности, содержащим значительное количество митохондрий (рис. 1, 4). Под ней расположены два слоя тонкофибриллярного материала: наружный — более светлый и внутренний — умеренной электрон-

ной плотности (рис. 1, 3). Последний занимает около двух третей толщины эмбриофора.

Наиболее глуболежащая часть эмбриофора представляет собой слой тонкофибриллярного материала высокой электронной плотности толщиной 300 нм. На поверхности этого слоя выявляются линейные отложения гомогенного электронноплотного материала, толщиной примерно 60 нм (рис. 1, 3). Общая толщина эмбриофора составляет в среднем 10 мкм. Под эмбриофором расположена часть цитоплазмы внутренней оболочки, содержащая деградирующие ядра и многочисленные вакуоли.

*D. tundra*. Капсула представлена складчатой пластиной, образованной мелкогранулярным материалом высокой электронной плотности. Толщина капсулы варьирует от 120 нм в участках, прилегающих к онкосфере, до 60 нм — у филаментов (рис. 1, 5, 6). Под ней расположен тонкий слой цитоплазмы наружной оболочки, содержащий зернистые включения, глыбки электронноплотного материала и везикулы (рис. 1, 6).

К «подскорлуповой мембране» изнутри прилегают массивные отложения материала высокой электронной плотности, аналогичного наблюдаемому в подлежащем слое цитоплазмы внутренней оболочки. Здесь же выявляются митохондрии на разных стадиях деградации, полости, ограниченные мембраной, мелкогранулярный материал высокой электронной плотности (рис. 1, 6).

Эмбриофор представляет собой пластину толщиной 1.0—1.5 мкм, образованную мелкогранулярным, плотноупакованным материалом умеренной электронной плотности. Под ним расположен слой цитоплазмы неодинаковой толщины, содержащий деградирующие ядра внутренней оболочки.

*A. raushi*. Капсула представляет собой складчатую электронноплотную пластинку толщиной примерно 15 нм. Цитоплазма наружной оболочки, расположенная под капсулой, имеет зернистый матрикс с полостями, везикулами и участками мембранного материала (рис. 2, 1; см. вкл.).

«Подскорлуповая мембрана» — электронноплотная пластинка толщиной около 20 нм, повторяющая в основном складки капсулы. Под ней расположена наружная часть цитоплазмы внутренней оболочки, содержащая деградирующие митохондрии, везикулы, мелкогранулярный материал. Эмбриофор построен из рыхлого электронноплотного материала губчатой структуры, имеет поры диаметром около 30 нм. Толщина его составляет примерно 300 нм. Слой цитоплазмы внутренней оболочки, расположенный под эмбриофором, тонкий, содержит сильно уплотненные пикнотичные ядра (рис. 2, 1).

*M. microskrijabini*. Яйца этого вида объединены в пакеты, содержащие несколько десятков яиц, покрытых общей оболочкой — «оотекой», представляющей собой гомогенную пластину толщиной около 350 нм, на наружной поверхности которой расположены многочисленные шарообразные выросты (рис. 2, 2).

Яйцевая капсула — пластинка толщиной 50 нм, образованная материалом невысокой электронной плотности (рис. 2, 3). Под ней расположен слой цитоплазмы наружной оболочки с многочисленными везикулами, полостями, глыбками электронноплотного материала. Наружная оболочка отделена от внутренней «подскорлуповой мембраной».

Матрикс цитоплазмы наружного слоя внутренней оболочки зернистый, содержит немногочисленные митохондрии на разных стадиях деградации, везикулы и полости. Эмбриофор представлен двуслойной пластиной рыхлого электронноплотного материала, толщиной около 400 нм (рис. 2, 3, 4). Поверхностный слой мелкогранулярный, умеренной плотности. Нижележащий осмиофильный слой имеет на внутренней поверхности многочисленные инвагинаты. Часть цитоплазмы внутренней оболочки, расположенная под эмбриофором, содержит уплотненные ядра (рис. 2, 4).

*W. pacificum*. Яйца имеют веретеновидную форму и собраны в грозди — своеобразные ассоциации из нескольких яиц (рис. 2, 5).

Капсула — сильно складчатая, тонкая пластинка умеренной электронной плотности. Ее толщина составляет примерно 40 нм. Наружная оболочка представлена щелевидной полостью между капсулой и «подскорлуповой мембраной». Матрикс практически отсутствует, лишь участками в ней встречаются остатки клеточных органелл.

«Подскорлуповая мембрана» представляет собой электронноплотную пластинку, толщиной около 39 нм. Цитоплазма внутренней оболочки, расположенная под ней, разрежена и содержит деградирующие митохондрии, вакуоли и гранулярный материал, расположенный преимущественно вблизи «подскорлуповой мембраны» (рис. 2, б). Эмбриофор построен из тонкофибриллярного электронноплотного материала, имеет поры диаметром около 40 нм. Толщина эмбриофора варьирует незначительно и составляет в среднем 300 нм. Участки цитоплазмы внутренней оболочки под эмбриофором содержат дегенерирующие ядра.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Набор зародышевых оболочек у яиц изученных нами видов соответствует описанному для других циклофиллид (Lethbridge, 1980; Fairweather, Threadgold, 1981; Swiderski, 1982; Chew, 1983). Следует отметить, что у *M. microskrjabini* имеется дополнительная оболочка — «оотека» или кокон, образующая яйцевой пакет. Спасский (1985) считает, что дополнительные защитные оболочки в виде кокона образуются за счет коагуляции коллоидных растворов содержимого матки.

Капсула у всех изученных видов представляет сильно складчатую пластинку толщиной 25—50 нм. Лишь у *D. tundra* это более толстая (120 нм) оболочка, которая тем не менее истончается до 60 нм в участках, формирующих филamentos. Ни в одном случае не наблюдалась плотная яйцевая «скорлупа», описываемая у цестод, проходящих развитие через наземных беспозвоночных.

Наиболее мощной из зародышевых оболочек является эмбриофор. Он и наиболее variabelен по своей организации. Однако, если у яиц *A. raushi*, *M. microskrjabini*, *W. pacificum*, *D. tundra* эмбриофор представлен единой пластиной электронноплотного материала и его структура сходна с описанными ранее для других циклофиллид (Lethbridge, 1980) при наличии специфических особенностей в организации, то описаний аналогов эмбриофора *D. bacilligera*, представляющего собой многокомпонентную структуру, нам обнаружить не удалось.

Существует несколько обстоятельств, по которым мы склонны считать эмбриофором у *D. bacilligera* все многослойное образование. Во-первых, это отсутствие каких-либо границ между участками различной электронной плотности и однотипность образующего их материала. Во-вторых, наличие «подскорлуповой мембраны», ясно различимой как при светооптическом (рис. 1, 2), так и электронно-микроскопическом наблюдении (рис. 1, 1). Это соответствует обычным представлениям о формировании эмбриофора как внутрицитоплазматической структуры во внутренней оболочке. Не является исключительным и наличие митохондрий в материале эмбриофора, они описаны в эмбриофоре яиц тениид (Morseth, 1965; Schramlova, Blazek, 1982; Chew, 1983). Это вполне объяснимо, если принять во внимание его толщину и требуемые для его построения энергетические затраты.

Северцов (1939) писал, что «несомненными ценогенезами являются различные виды яйцевых оболочек, защищающие зародышей от различного рода... повреждений». Работы, посвященные адаптивной роли зародышевых оболочек яиц циклофиллид, проходящих свое развитие через водных беспозвоночных, крайне немногочисленны (Томиловская, 1985; Jagecka, 1961) и посвящены изучению макрохарактеристик яиц — размерам, форме, наличию или отсутствию

филаментов. Представленные в данной работе сведения по сравнительной микроморфологии зародышевых оболочек яиц гименолепидат свидетельствуют не только о наличии несомненных видовых особенностей в их строении, но и подтверждают высказанное ранее положение (Краснощеков, Кашин, 1983) о зародышевых оболочках как о комплексе ценогенетических структур, адаптированных к конкретным условиям окружающей среды в широком смысле этого значения. Приобретение яйцами типичной формы вследствие расплавления капсулы и наличие филаментов у *D. tundra* и *D. bacilligera* не только обеспечивает продолжительную флотацию или прикрепление к субстрату. Это позволяет резко увеличивать размеры, тем самым снижая вероятность поедания яиц неспецифичными промежуточными хозяевами. Утолщенная капсула яиц *D. tundra* и оотека *M. microskrjabini* требуют наличия подходящего для их разрушения ротового аппарата у промежуточных хозяев. Действительно, в качестве таковых для *D. tundra* отмечены крупные личинки насекомых — типулиды, для *M. microskrjabini* — гаммарусы. И те, и другие имеют хорошо развитый ротовой аппарат грызущего типа. Объединение большого количества яиц в пакеты и грозди несомненно повышает интенсивность инвазии. Этой же задаче, помимо указанных выше, служат и филаменты. Мы неоднократно наблюдали выделение из члеников клубков из нескольких десятков яиц, переплетенных длинными филаментами.

Для тениид и некоторых гименолепидид показана связь между строением эмбриофора и особенностями переработки пищи промежуточными хозяевами (Lethbridge, 1980; Fairweather, Threadgold, 1981; Schramlova, Blazek, 1982). Подобным образом обстоит дело и в случае изученных нами видов. Так, у *A. raushi* и *W. pacificum* эмбриофор тонкий, рыхлой структуры, имеет поры. Наличие эмбриофора такого типа делает возможным быстрое вылупление зародышей (онкосфер), поскольку одновременное действие твердых пищевых частиц, пищеварительных энзимов хозяина и движения эмбриональных крючков способствуют быстрому разрушению эмбриофора даже в отсутствие грызущего ротового аппарата у мелких пресноводных олигохет и низших ракообразных, являющихся промежуточными хозяевами цестод указанных видов. Мощный эмбриофор имеют яйца *D. tundra*, промежуточными хозяевами которых являются личинки насекомых, снабженные хорошо развитым грызущим ротовым аппаратом.

Комплексное рассмотрение микроморфологии зародышевых оболочек позволяет более целенаправленно прогнозировать возможных промежуточных хозяев. Так, исходя из общей морфологии яиц *D. bacilligera*, в совокупности с представленными данными по ультраструктурной организации их зародышевых оболочек, можно предположить, что промежуточными хозяевами вида являются достаточно крупные беспозвоночные с ротовым аппаратом грызущего типа, обитающие или питающиеся в зарослях водной растительности, вероятнее всего, представители пресноводных амфипод.

#### Л и т е р а т у р а

- Иванова-Казас О. М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Новосибирск, Наука, 1975. 372 с.
- Кашин В. А., Плужников Л. Т. Цитоморфология зрелых яиц цестоды *Fimbriaria fasciolaris* (Cestoidea, Hymenolepididae). — Паразитология, 1983, т. 17, вып. 6, с. 430—435.
- Краснощеков Г. П., Кашин В. А. Адаптивная морфофункциональная дифференциация онкосфер. — Тез. 10-го Всесоюз. симп. «Биол. проблемы Севера». Ч. 2. Магадан, 1983, с. 322—323.
- Северцов А. Н. «Морфологические закономерности эволюции. М.—Л.; Изд-во АН СССР, 1939. 536 с.
- Спаский А. А. Возникновение замкнутой матки у ленточных гельминтов как ароморфоз. — Изв. АН МССР, сер. биол.-хим. наук, 1985, № 2, с. 62—64.
- Томиловская Н. С. Цестоды семейства Dilepididae Fuhgmann, 1907 от куликов Чаунской

- низменности (Северо-Запад Чукотки). — В кн: Экология и морфология гельминтов позвоночных Чукотки. М., Наука, 1977, с. 4—28.
- Томилловская Н. С. Цестоды семейства Dilepididae Fuhrmann, 1907 Восточной Субарктики и их биологические особенности. — ИБПС ДВНЦ АН СССР. Магадан, 1985. 28 с. (Рукопись деп. в ВИНТИ 3 апр. 1985. № 2285—85 ДЕП).
- Chew M. W. K. *Taenia crassiceps*: ultrastructural observations on the oncosphere and associated structures. — J. Helminthol., 1983, vol. 57, N 2, p. 101—113.
- Fairweather I., Threadgold L. T. *Hymenolepis nana*: the fine structure of the embryonic envelopes. — Parasitol., 1981, vol. 82, N 3, p. 429—443.
- Gabriel C. I. Recherches sur l'oncosphere des cestodes: origine et formation de la callote recouvrant les crochets. — Z. Parasitenk., 1981, vol. 65, N 2, p. 191—205.
- Jarecka L. Morphological adaptations of tapeworm eggs and their importance in the life cycles. — Acta Parasitol. Pol., 1961, vol. 9, N 26, p. 409—426.
- Lethbridge R. S. The biology of oncospheres of cyclophyllidean cestodes (Review article). — Helminth. abstr., series A, 1980, vol. 49, N 2, p. 60—72.
- Morseth D. J. Ultrastructure of developing taeniid embryophore and associated structures. — Exp. Parasitol., 1965, vol. 16, N 2, p. 207—216.
- Rybicka K. Embryogenesis in *Hymenolepis diminuta*. 1. Morphogenesis. — Exp. Parasitol., 1966, vol. 56, N 1, p. 84—97.
- Rybicka K. Ultrastructure of embryonic envelopes and their differentiation in *Hymenolepis diminuta* (Cestoda). — J. Parasitol., 1972, vol. 58, N 5, p. 849—863.
- Schramlova J., Blazek K. Ultrastructure of the hatched and unhatched oncospheres of *Taenia saginata*. — Folia Parasitol., 1982, vol. 29, N 1, p. 45—50.
- Swiderski Z. *Echinococcus granulosus*: embryonic envelope formation. — Electron. Microsc., 1982, 10 Int. Congr., Hamburg, Aug. 14—24, 1982. vol. 3. Frankfurt/M., p. 513—514.

ИБПС ДВНЦ АН СССР, Магадан

Поступила 10.10.1986

# MICROMORPHOLOGY AND ADAPTIVE ROLE OF EGG EMBRYONAL MEMBRANES IN CESTODES OF THE SUBORDER HYMENOLEPIDATA (CESTODA, CYCLOPHYLLIDEA)

V. A. Kashin

## SUMMARY

Ultrastructural organization of embryonal membranes of eggs in 5 species of hymenolepidats belonging to two families (Dilepididae — *D. bacilligera*, *D. tundra* and Hymenolepididae — *A. raushi*, *M. microskrjabini*, *W. pacificum*) parasitic at the larval stage in various aquatic invertebrates was studied. An unusual embryophore, a multicomponent structure 10 mkm thick, in *D. bacilligera* is described.

The obtained data on comparative micromorphology of the embryonal membranes testify to the presence of specific peculiarities in their structure and permit to regard them as a complex of cenogenetic structures adapted to concrete conditions of the environment in the broad sense. A connection of fine structure of the embryonal membranes, embryophore above all, with processing of food by intermediate hosts, aquatic invertebrates of various taxonomic groups, is shown.

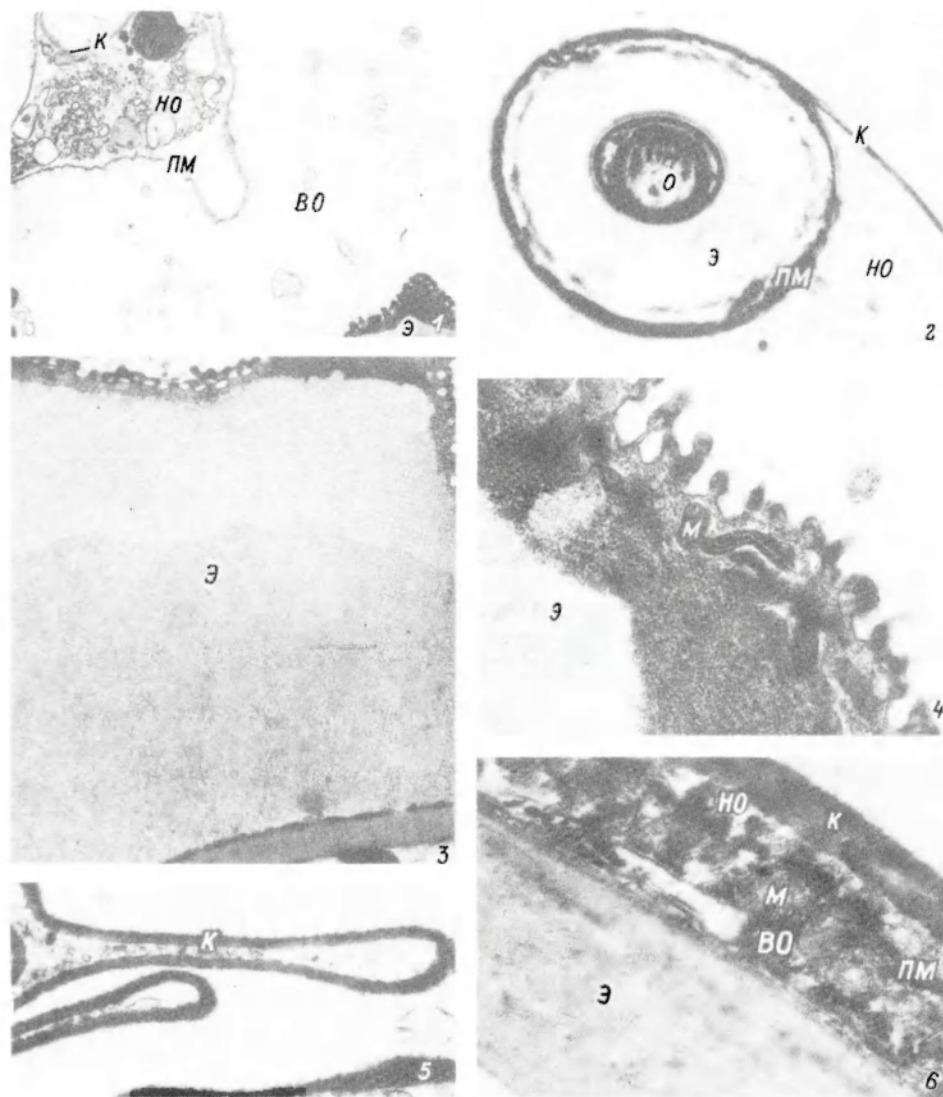


Рис. 1. Микроморфология зародышевых оболочек.

1 — ультраструктура наружных зародышевых оболочек яйца *D. bacilligera* (ув. 3000); 2 — общий вид зрелого яйца *D. bacilligera* (фазовый контраст, ув. 600); 3 — участок эмбриона *D. bacilligera* (ув. 10 000); 4 — организация наружной части эмбриона *D. bacilligera* (ув. 24 000); 5 — филаменты яйца *D. tundra* (ув. 11 000); 6 — ультраструктура зародышевых оболочек яйца *D. tundra* (ув. 20 000). ВО — внутренняя оболочка, К — капсула, М — митохондрии, НО — наружная оболочка, О — онкосфера, ПМ — «подкорлуповая мембрана», Э — эмбрион.

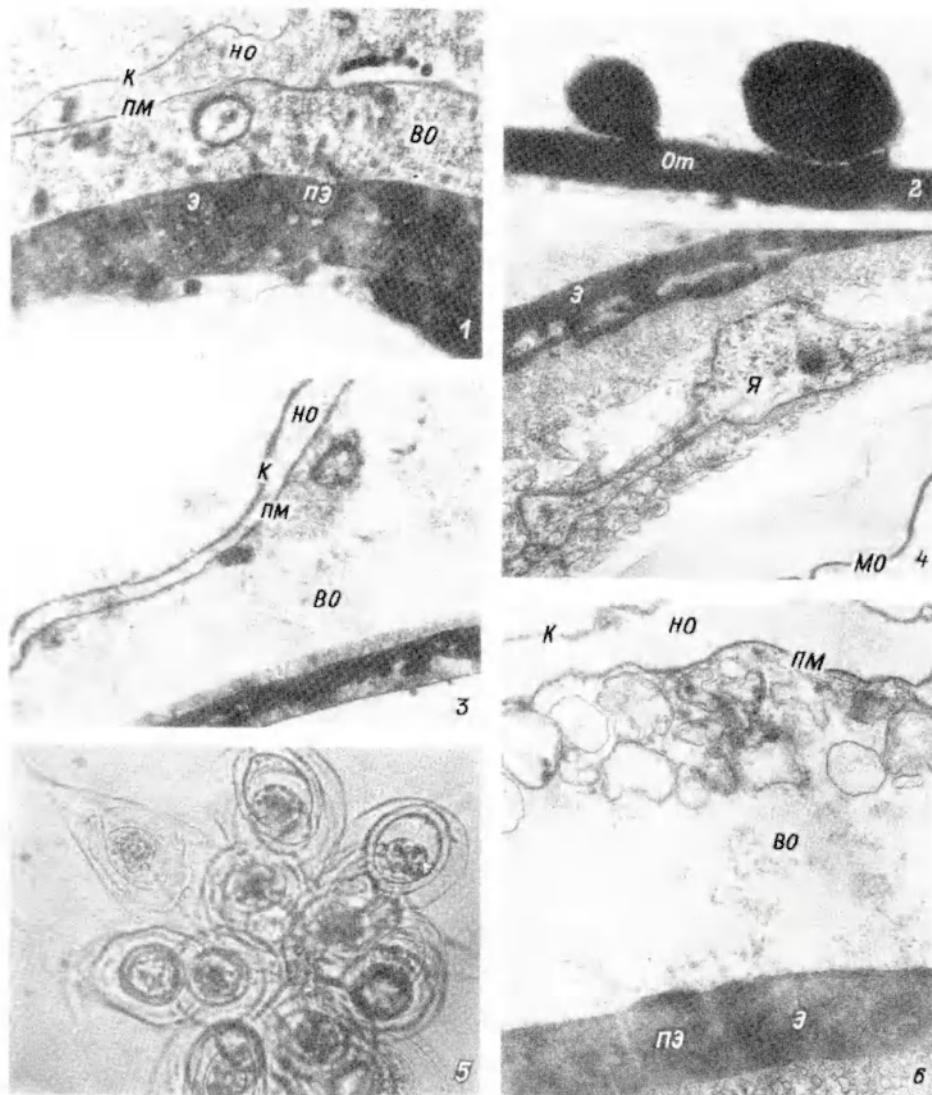


Рис. 2. Микроморфология зародышевых оболочек.

1 — ультраструктура зародышевых оболочек яйца *A. raushi* (ув. 16 000); 2 — строение оотеки пакетов яиц *M. microskrabini* (ув. 25 000); 3 — организация наружных зародышевых оболочек яйца *M. microskrabini* (ув. 9000); 4 — участок эмбриона яйца *M. microskrabini* с подлежащим слоем цитоплазмы внутренней оболочки (ув. 17 000); 5 — общий вид группы яиц *W. pacificum* (фазовый контраст, ув. 400); 6 — ультраструктура зародышевых оболочек яйца *W. pacificum* (ув. 16 000). МО — мембрана онкосферы, От — оотека, ПЭ — поры эмбриона, Я — ядро внутренней оболочки.  
Остальные обозначения те же, что на рис. 1.